



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان

دانشکده داروسازی و علوم دارویی

پایان نامه دکترای عمومی داروسازی

عنوان:

تهیه و ارزیابی خصوصیات فیزیکوشیمیایی نانوذرات جامد چربی حاوی  
عصاره استاندارد شده مازو (*Quercus infectoria*) با پتانسیل اثر ضدلک

توسط:

فروغ بهرامی

استادان راهنما:

دکتر فریبا شریفی فر

دکتر مهدی انصاری



**Kerman University of Medical Sciences  
Faculty of Pharmacy**

**Pharm. D Thesis**

**Title:**

**Preparation and physicochemical evaluation of solid lipid  
nanoparticles containing *Querquos infectoria* extract with antimelasma  
potential**

**By:**

**Forough Bahrami**

**Supervisors:**

**Dr. Fariba Sharififar  
Dr. Mehdi Ansari**



## خلاصه

**مقدمه:** با توجه به نیاز به فرآورده‌های روشن‌کننده پوستی و ضدلک وجود محصولات با منشأ طبیعی و دارای خاصیت ضدلک بسیار مورد توجه می‌باشند. مطالعات نشان می‌دهد که گال درخت بلوط دارای اثر مهارکنندگی آنزیم تیروزیناز می‌باشد که آنزیم کلیدی در بیوستتز ملانین است لذا این مطالعه با هدف تهیه و ارزیابی خصوصیات فیزیکوشیمیایی نانوذرات جامد چربی حاوی عصاره استاندارد شده مازو (*Quercus infectoria*) با پتانسیل اثر ضدلک انجام شد.

**روش:** تهیه عصاره گیاهی با روش ماسراسیون گرم و با استفاده از اتانول ۸۰ درصد به مدت ۷۲ ساعت صورت گرفت. طیف آن با دستگاه UV گرفته شد و بیشترین طول‌موج جذبی تعیین و از آن برای مراحل بعدی استفاده شد. خصوصیات فیزیکی شامل بررسی برهم‌کنش‌ها با FTIR، اندازه ذره‌ای با روش پراکنش نور لیزر، ساختار کریستالی با XRD و رفتار گرمایی با TGA برای نانوذرات لیپیدی جامد بررسی شد. فرمولاسیون‌های ساخته شده در سه محیط مختلف یخچال، اتاق و آون با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد از نظر شکل ظاهری و مقدار عصاره باقی‌مانده در طی مدت ۶ ماه بررسی شد. جهت بررسی میزان و سرعت آزادسازی دارو از فرمولاسیون نیز از Frazn Diffusion Cell استفاده شد.

**نتایج:** بیشینه جذب ( $\lambda_{max}$ ) منحنی استاندارد عصاره مازو برابر با طول‌موج ۲۷۹ nm که با روش UV اندازه‌گیری شد به دست آمد. نتایج مربوط به اندازه ذره‌ای نشان می‌دهد که قطر میانگین تعداد و حجمی ذرات ۴۷۲ نانومتر بوده که نشانگر یکنواختی مطلوب ساختار می‌باشد. نتایج XRD نیز نشان می‌دهد که ساختار فرمولاسیون نانوذرات حفظ شده است. نتایج TGA نیز نشانگر پایداری حرارتی بالای سیستم بوده به نحوی که کاهش وزن از دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد به بعد مشاهده می‌شود و

می‌توان نتیجه گرفت که برهم‌کنش عصاره و پایه در حفظ ساختار سیستم نقش ایفا می‌کند. نتایج

مربوط به پایداری در سه محیط نیز نشان داد که فرمولاسیون‌ها در محیط یخچال پایدار می‌باشند.

**بحث و نتیجه‌گیری:** عصاره مازو در پایه نانوذرات لیپیدی به خوبی بارگیری شده و می‌توان از این

فرمول برای تهیه فرمولاسیون موضعی کرم ضدلک استفاده نمود.

**کلمات کلیدی:** نانوذرات، مازو، ضدلک.

## Abstract

**Introduction:** Due to the need for skin lightening and anti-stain products, the existence of products with natural origin and anti-stain properties are very important. Studies show that oak scab has an inhibitory effect of tyrosinase, which is a key enzyme in melanin biosynthesis. Therefore, this study was performed to prepare and evaluate the physicochemical properties of solid fat nanoparticles containing standardized extract of *Quercus infectoria* with potential anti-stain effect.

**Method:** The plant extract was prepared by hot massage method using 80% ethanol for 72 hours. The spectrum was taken with a UV device and the maximum absorption wavelength was determined and used for the next steps. Physical properties including interactions with FTIR, particle size by laser light scattering, crystal structure by XRD and thermal behavior with TGA for solid lipid nanoparticles were investigated. Formulations made in three different environments including refrigerator, room and oven at 40 ° C in terms of appearance and the amount of residual extract were tested for 6 months. Franz Diffusion Cell was used to evaluate the amount and speed of drug release from the formulation.

**Results:** The maximum absorption ( $\lambda_{\max}$ ) of the standard concentration of mazo extract was 279 nm, measured by UV method. . The results related to particle size show that the average diameter of the number and volume of particles is 472 nm, which indicates the desired uniformity of the structure. XRD results also show that the structure of the nanoparticle formulation is preserved. The results of TGA also indicate the high thermal stability of the system so that weight loss is observed from 100 ° C onwards and it can be concluded that the interaction of the extract and the base plays a role in maintaining the structure of the system. The results related to stability in three environments also showed that the formulations are stable in the refrigerator environment.

**Conclusion:** Mazo extract is well loaded in the base of lipid nanoparticles and this formula can be used to prepare a topical formulation of anti-stain cream.

**Keywords:** Nanoparticles, *Quercus infectoria*, Antimelasma.

## فهرست مطالب

| عنوان               | صفحه |
|---------------------|------|
| خلاصه.....          | I    |
| Abstract.....       | III  |
| فهرست مطالب.....    | IV   |
| فهرست جدول‌ها.....  | VII  |
| فهرست شکل‌ها.....   | VIII |
| فهرست نمودارها..... | IX   |

### فصل اول: مقدمه

|  |    |
|--|----|
| ۱-۱- پیشگفتار و هدف.....                 | ۲  |
| ۲-۱- نانوذرات لیپیدی جامد.....           | ۳  |
| ۱-۲-۱- مزایا SLN.....                    | ۵  |
| ۲-۲-۱- راه‌های تجویز فرمولاسیون SLN..... | ۶  |
| ۳-۱- مازو.....                           | ۶  |
| ۴-۱- ملانورتنز.....                      | ۸  |
| ۵-۱- ملاسما و درمان.....                 | ۹  |
| ۱-۵-۱- درمان موضعی.....                  | ۱۰ |

### فصل دوم: مواد، دستگاه‌ها و روش‌ها

|   |    |
|---|----|
| ۱-۲- مواد شیمیایی مورد استفاده.....       | ۱۴ |
| ۲-۲- وسایل و دستگاه‌های مورد استفاده..... | ۱۴ |

۱۵ ..... ۳-۲- روش کار

۱۵ ..... ۳-۱-۲- عصاره گیری

۱۵ ..... ۳-۲- تعیین مقدار ترکیبات فنلیک تام گیاه

۱۶ ..... ۴-۲- تهیه فرمولاسیون ها

۱۷ ..... ۵-۲- تعیین بیشینه طول موج ( $\lambda_{max}$ ) در رسم منحنی استاندارد گیاه مازو

۱۷ ..... ۶-۲- بررسی شکل ظاهری فرمولاسیون

۱۷ ..... ۷-۲- بررسی پایداری شیمیایی

۱۸ ..... ۸-۲- بررسی میزان و سرعت آزادسازی دارو از فرمولاسیون

۱۹ ..... ۹-۲- تعیین خصوصیات فیزیکی نانو ذرات لیپیدی جامد تهیه شده

۱۹ ..... ۹-۱-۲- FTIR

۱۹ ..... ۹-۲-۲- اندازه ذره ای

۱۹ ..... ۹-۳-۲- XRD

۲۰ ..... ۹-۴-۲- آنالیز TGA

## فصل سوم: نتایج

۳-۱- نتایج عصاره‌گیری مازو..... ۲۲

۳-۲- تعیین بیشینه جذب ( $\lambda_{\max}$ ) و رسم منحنی استاندارد گیاه مازو..... ۲۲

۳-۳- نتایج مربوط به تعیین مقدار عصاره..... ۲۴

۳-۴- فرمولاسیون های ساخته شده..... ۲۴

۳-۵- نتایج مربوط به بررسی شکل ظاهری..... ۲۵



|      |   |    |
|------|---|----|
| ۶-۳  | نتایج بررسی آزادسازی عصاره مازو از فرمولاسیون در زمان‌های مختلف | ۲۶ |
| ۷-۳  | پایداری فرمولاسیون در محیط‌های یخچال، اتاق و آون                | ۳۰ |
| ۸-۳  | نتایج اندازه ذره‌های نانوذرات                                   | ۳۱ |
| ۹-۳  | نتایج XRD   | ۳۳ |
| ۱۰-۳ | نتایج آنالیز TGA  | ۳۴ |
| ۱۱-۳ | نتایج آنالیز FTIR   | ۳۵ |

### فصل چهارم: بحث و نتیجه‌گیری

|     |            |    |
|-----|------------|----|
| ۱-۴ | بحث کلی    | ۳۸ |
| ۲-۴ | نتیجه‌گیری | ۳۹ |
| ۳-۴ | پیشنهادهای | ۳۹ |

### منابع

|       |    |
|-------|----|
| منابع | ۴۲ |
|-------|----|

## منابع

- [1] Jamshidzadeh A, Shokri Y, Ahmadi N, Mohamadi N, Sharififar F. *Quercus infectoria* and *Terminalia chebula* decrease melanin content and tyrosinase activity in B16/F10 cell lines. **J Pharm Pharmacogn Res** 2017; 5:270-7.
- [2] Mirabolfathy M. Outbreak of charcoal disease on *Quercus spp* and *Zelkova carpinifolia* trees in forests of Zagros and Alborz mountains in Iran (Short Article). **Iran J Plant Pathol** 2013; 49(2):257-263.
- [۳] کرمی، م، احمدی، ا، اصل، ج. بررسی تأثیر گال روی ترکیبات بیوشیمیایی برگ درختان بلوط ایرانی (*Quercus persica*) (مطالعه موردی: منطقه بلوران استان لرستان). **مجله پژوهش‌های گیاهی** ۲۰۱۷؛ ۱۲-۱.
- [4] Kampfer S, Lexer C, Glossl J, Steinkellner H. Brief report characterization of (GA) n microsatellite loci from *Quercus robur*. **Hereditas** 1998; 129:1-86.
- [5] Jamshidzadeh A, Shokri Y, Ahmadi N, Mohamadi N, Sharififar F. *Quercus infectoria* and *Terminalia chebula* decrease melanin content and tyrosinase activity in B16/F10 cell lines. **J Pharm Pharm Res** 2017; 5:270-7.
- [۶] ناصری، م، گل محمدزاده، ش، آرویی، ح، جعفری، م، نعمتی، ح. تأثیر نانوذرات لیپیدی جامد حاوی اسانس آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss.) بر بازدارندگی از رشد عوامل بیماری‌زای قارچی *Alternaria solani*، *Rhizoctonia solani* و *Rhizopus stolonifer*. **تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران** ۱۳۹۵؛ ۳۲(۳): ۵۱۲-۵۰۱.
- [7] Shi F, Zhao JH, Liu Y, Wang Z, Zhang YT, Feng NP. Preparation and characterization of solid lipid nanoparticles loaded with frankincense and myrrh oil. **Int J Nanomedicine** 2012; 7:2033-43.
- [8] Mehnert W, Mäder K. Solid lipid nanoparticles: production, characterization and applications. **Adv Drug Deliv Rev** 2012; 64:83-101.
- [9] Fathi M, Mozafari MR, Mohebbi M. Nanoencapsulation of food ingredients using lipid based delivery systems. **Trends Food Sci Technol** 2012; 23:13-27.

- [10] Li K-K, Yin S-W, Yang X-Q, Tang C-H, Wei Z-H. Fabrication and characterization of novel antimicrobial films derived from thymol-loaded zein–sodium caseinate (SC) nanoparticles. **J Agric Food Chem** 2012; 60:11592-600.
- [11] Rohit B, Pal KI. A method to prepare solid lipid nanoparticles with improved entrapment efficiency of hydrophilic drugs. **Curr Nanosci** 2013;9:211-20.
- [12] Lim S-J, Kim C-K. Formulation parameters determining the physicochemical characteristics of solid lipid nanoparticles loaded with all-trans retinoic acid. **Int J Pharm** 2002; 243:135-46.
- [13] Kim B-D, Na K, Choi H-K. Preparation and characterization of solid lipid nanoparticles (SLN) made of cacao butter and curdlan. **Eur J Pharm Sci** 2005; 24:199-205.
- [14] Müller RH, Mäder K, Gohla S. Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery—a review of the state of the art. **Eur J Pharm Biopharm** 2000;50:161-77.
- [15] Kheradmandnia S, Vasheghani-Farahani E, Nosrati M, Atyabi F. Preparation and characterization of ketoprofen-loaded solid lipid nanoparticles made from beeswax and carnauba wax. **Nanomed Nanotechnol Biol Med** 2010; 6:753-9.
- [16] Schwarz C, Mehnert W, Lucks J, Müller R. Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery. I. Production, characterization and sterilization. **J Control Release** 1994; 30:83-96.
- [17] Borgström B. Importance of phospholipids, pancreatic phospholipase A2, and fatty acid for the digestion of dietary fat: *in vitro* experiments with the porcine enzymes. **Gastroenterology** 1980; 78:954-62.
- [18] Borgström B, Donnér J. The polar interactions between pancreatic lipase, colipase and the triglyceride substrate. **FEBS Lett** 1977; 83:23-6.
- [19] Mulla J, Khazi I. Indian journal of novel drug delivery. **Indi J Novel Drug Deliv** 2011; 3:258-63.
- [20] Muller RH, Maassen S, Weyhers H, Mehnert W. Phagocytic uptake and cytotoxicity of solid lipid nanoparticles (SLN) sterically stabilized with poloxamine 908 and poloxamer 407. **J Drug Target** 1996; 4:161-70.
- [21] Müller RH, Rühl D, Runge SA. Biodegradation of solid lipid nanoparticles as a function of lipase incubation time. **Int J Pharm** 1996; 144:115-21.
- [22] Olbrich C, Müller R. Enzymatic degradation of SLN effect of surfactant and surfactant mixtures. **Int J Pharm** 1999; 180: 31-39.

- [23] Sadeghi S, Melika G, Pujade-Villar J, Penzes Z, Acs Z, Bechtold M. Oak cynipid gall inquiline of Iran (Hym.: *Cynipidae: Synergini*), with description of new species. **J Entomol Soc Iran** 2006; 25:15-50 [Presian].
- [24] Elahi MY, Rouzbehan Y. Characterization of *Quercus persica*, *Quercus infectoria* and *Quercus libani* as ruminant feeds. **Anim Feed Sci Tech** 2008; 140:78-89.
- [25] Schönrogge K, Walker P, Crawley M. Parasitoid and inquiline attack in the galls of four alien, cynipid gall wasps: host switches and the effect on parasitoid sex ratios. **Ecol Entomol** 2000; 25:208-19.
- [26] Voon HC, Bhat R, Rusul G. Flower extracts and their essential oils as potential antimicrobial agents for food uses and pharmaceutical applications. **Compre Rev Food Sci Food Safe** 2012;11:34-55.
- [27] Hamid H, Kaur G, Abdullah ST, Ali M, Athar M, Alam MS. Two new compounds from the galls of *Quercus infectoria*. with nitric oxide and superoxide inhibiting ability. **Pharma Biol** 2005; 43:317-23.
- [28] Fölster- Holst R, Latussek E. Synthetic tannins in dermatology a therapeutic option in a variety of pediatric dermatoses. **Pediatr Dermatol** 2007; 24:296-301.
- [29] Akbar S. *Quercus infectoria* G. Olivier (*Fagaceae*). **Handbook of 200 Medicinal Plants**. USA: Springer, 2020:1505-11.
- [30] Fatima KH, Roqaiya M, Usmoni N, Khan MI. Phytochemical, pharmacological and unani traditional uses of *Mazoo (Quercus infectoria)*: a review. **J AYUSH** 2020; 9.
- [31] Ansari M, Etelaei F, Sharififar F. Tyrosinase kinetic in the presence of three inhibitory medicinal plants. **Int J Green Pharm** 2011; 5:103-6.
- [32] Khazaeli P, Goldoozian R, Sharififar F. An evaluation of extracts of five traditional medicinal plants from Iran on the inhibition of mushroom tyrosinase activity and scavenging of free radicals. **Int J Cosmet Sci** 2009; 31:375-381.
- [33] Sharififar F, Dehghan-Nudeh G, Raeiat Z, Amirheidari B, Moshrefi M, Purhemati A. Tyrosinase inhibitory activity of major fractions of *Quercus infectoria* galls. **Pharmacogn Commun** 2013; 3:21-6.
- [34] Riley P. Melanin. **Int J Biochem Cell Biol** 1997; 29:1235-1239.
- [35] Slominski A, Tobin DJ, Shibahara S, Wortsman J. Melanin pigmentation in mammalian skin and its hormonal regulation. **Physiol Rev** 2004; 84:1155-228.

- [36] Li X, Yang H-W, Jiang Y, Oh J-Y, Jeon Y-J, Ryu BJMD. Ishophloroglucin a isolated from ishige okamurae suppresses melanogenesis induced by  $\alpha$ -MSH: *in vitro* and *in vivo*. **Mar Drugs** 2020; 18:470.
- [37] Opperman L, De Kock M, Klaasen J, Rahiman F. Tyrosinase and melanogenesis inhibition by indigenous african plants: a review. **Cosmetics** 2020; 7:6.
- [38] Bandyopadhyay D. Topical treatment of melasma. **Indian J Dermatol** 2009; 54:303.
- [39] McKesey J, Tovar-Garza A, Pandya AG. Melasma treatment: an evidence-based review. **Am J Clin Dermatol** 2020; 21:173-225.
- [40] Draelos ZD. Skin lightening preparations and the hydroquinone controversy. **Dermatol Ther** 2007; 20:308-13.
- [41] Liebel F, Kaur S, Ruvalo E, Kollias N, Southall MD. Irradiation of skin with visible light induces reactive oxygen species and matrix-degrading enzymes. **J Investig Dermatol** 2012; 132:1901-7.
- [42] Castanedo-Cazares JP, Hernandez-Blanco D, Carlos-Ortega B, Fuentes-Ahumada C, Torres-Álvarez B. Near-visible light and UV photoprotection in the treatment of melasma: a double-blind randomized trial. **Photodermatol Photoimmunol Photomed** 2014; 3:35-42.
- [43] Yousefi A, Khani Khoozani Z, Zakerzadeh Forooshani S, Omrani N, Moini AM, Eskandari Y. Is topical zinc effective in the treatment of melasma? A double-blind randomized comparative study. **Dermatol Surg** 2014; 40:33-7.
- [44] Slinkard K, Singleton VL. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. **Am J Enol Vitic** 1977; 28:49-55.



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان  
دانشکده داروسازی

پایان نامه خانم فروغ بهرامی دانشجوی داروسازی ورودی ۹۳ به شماره ۱۲۵۸  
تحت عنوان:

تبیه و ارزیابی خصوصیات فیزیولوژیکی نانوذرات جامد چربی حاوی عصاره استندارد شده مارو (Quercus

infectoria) پاتاسیل اثر ضد لک

استاد (اساتید) راهنما:

دکتر فریبا شریفی فر

دکتر مهدی انصاری

استاد (اساتید) مشاور: -

هیئت محترم داوران:

۲- دکتر میترا مهربانی

۱- دکتر غلامرضا دهقان

در تاریخ ۹۹/۱۱/۲۰ مورد ارزیابی قرار گرفت و با نمره (با عدد) ۱۸,۹۷  
(با حروف) هجده و نه و نیم صد به تصویب رسید.

دکتر میترا مهربانی  
معاون پژوهشی دانشکده

محمد رضا نخعی  
کارشناس اداره پایان نامه

۹۹/۱۱/۲۰

دکتر ناصر امیرحیدری  
رئیس دانشکده

